

柑橘锈壁虱的汤普森多毛菌的分离*

浙江省黄岩柑橘研究所植保组

柑橘锈壁虱(*Phyllocoptruta oleivora* Ashmead)是世界柑橘栽培区最重要的害虫之一,在我国柑橘栽培区也几乎全部发生,严重影响柑橘产量、品质和树势。

1972年7月31日,我们于浙江黄岩、临海两县交界的一片橘园,在早橘果实上发生的柑橘锈壁虱上,分离到汤普森多毛菌(*Hirsutella thompsonii* Fisher),对其形态特征、培养基、室内回接和田间侵染试验作了初步观察,现将工作结果简述于后。

一、汤普森多毛菌的形态特征

汤普森多毛菌(*Hirsutella thompsonii* Fisher)属半知菌纲(Fungi Imperfecti)丛梗孢目(Moniliales)

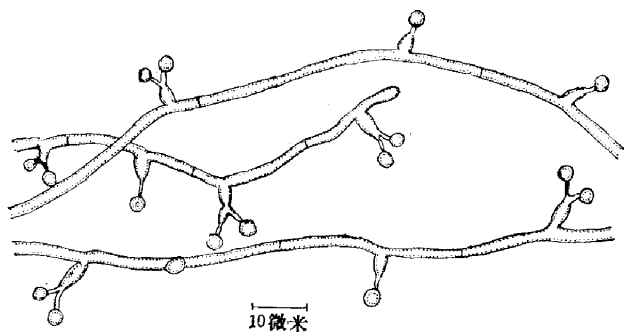


图1 汤普森多毛菌 *Hirsutella thompsonii* 形态

束梗孢科(Stilbaceae)多毛霉属(*Hirsutella*)。我们的分离菌(菌株编号720731)的形态特征如下:

被寄生而死的柑橘锈壁虱尸体,往往从其前端、后端和体侧纵生出菌丝体,其数目自2、3根至5、6根不等。菌丝体在20倍手持扩大镜下能见到,呈银白色。菌丝体初白色,以后变灰白色,匍生。菌丝体直径为2.3—3.3微米,平均2.8微米,菌丝有隔膜。分生孢子梗侧生,与菌丝体成直角,质坚硬而透明,呈小颈瓶状,长10—16微米,宽2.5—4(6)微米。瓶状孢梗长8—12(14)微米,宽2.5—4微米。小梗长2—4(6)微米,宽0.7—1微米。小梗通常为1个,也有2个的,个别的3个。

分生孢子顶生,透明,圆形,个别近圆形至卵形。圆形孢子直径3—4(4.5)微米,近圆形至卵形孢子直径3—4×4—5微米(见图1)。

二、汤普森多毛菌的培养基

汤普森多毛菌能在各种培养基上生长。在2%纯琼脂培养基上,只生长菌丝而不形成菌落。

在合成培养基上的生长:葡萄糖胨胶培养基(葡萄糖10克,胨5克,硫酸镁1克,琼脂20克,水1,000毫升)上发育良好,形成白色短毛状菌落,一周后菌丝老熟,由白色转变为灰白色;上述培养基再加牛肉浸膏的生长反而不好,可能氮水平过高抑制该菌生长。鱼粉培养基(秘鲁鱼粉50克,葡萄糖10克,琼脂20克,水1,000毫升)上菌落比较疏松,呈球形,突出于表面。植病技术常用的PDA培养基,菌落轮廓分明,发育佳良,培养时间稍久也极少受杂菌污染。

植物组织培养基:在马铃薯块上长灰白色球形突起菌落,在甘薯块上不能生长,可能与后者缺乏氮源有关。

液体振荡培养初步结果表明,氮源较碳源更显得重要,两者菌丝体的产量差异极大;葡萄糖0.1—50毫克/毫升的产量均极微,胨以5—10毫克

毫升为最适,产量最高。

三、汤普森多毛菌的回接试验

汤普森多毛菌720731菌株对柑橘锈壁虱的侵染力,经室内回接试验结果,在接种后保湿48

* 在分离汤普森多毛菌工作过程中,我们曾得到中国农林科学院茶叶研究所有关同志和浙江农业大学植保专业有关教师帮助翻阅有关资料并鉴定菌种,中国科学院微生物研究所有关同志曾帮助鉴定菌种并进行显微计测。对此,我们一并表示深切谢意!

小时,经 87 小时后的虫体死亡率平均为 97.1%,对照为 24.3%;经 111 小时后的虫体死亡率平均为 98.1%,对照为 20%。保湿时间以 48 小时较 24 小时为好,前者接种后 69 小时后的虫体死亡率平均为 97.1%,对照为 23.5%;而后的虫体死亡率平均 90.5%,对照为 18.5%。

四、汤普森多毛菌的田间侵染试验

在上述室内回接试验的基础上进行田间侵染试验,以探讨汤普森多毛菌在田间应用的可能性。二年来的试验结果表明,在田间接种后不保湿,未遇大雨的情况下,接种 3 天后的虫体死亡率均可高达 90% 以上,遇雨的情况下在 70% 以上。接种后 2 个月内的虫体消长数远较不接种的对照少得多。

五、汤普森多毛菌的分离方法

根据柑橘锈壁虱在高温多湿 (26—27℃, R. H. 80%) 的条件下,易于被寄生而死亡的特性,将野外采来的柑橘锈壁虱虫体,经过保湿以后进行分离,颇易成功。即以清洁羊毛笔将虫体刷至消毒的培养皿中,进行保湿,俟 1、2 天后在 20—30 倍双筒解剖镜下检查,见有长菌丝体的虫体,即移植于平板培养基上,置于 26—28℃ 恒温箱内培养,1、2 天出现白色短毛状菌落时 (以 10×10 低倍镜头检查,见菌丝体着生瓶状孢梗和圆形孢子而无污染),即可将它移植于斜面培养基,供纯粹培养。

为了获得汤普森多毛菌的分离成功,还须注意: (1) 把握采样季节,最好选择在雨季进行,因柑橘锈壁虱在高温多雨条件下受该菌机会较多; (2) 采样时要尽量避免在喷过任何农药的树上进行,因这类树的虫体受化学物质致死的因素大而受该菌寄生的因素就少; (3) 预防杂菌污染,在分离前 1、2 天预先倒好移植用培养基,进行空白培养,便于暴露和弃去已经被污染的培养基; (4) 勤检查勤移植,分离后做到勤检查,一俟长出菌落,即予以移植,做到纯粹培养。

讨 论

我们分离的汤普森多毛菌 720731 菌株,与 Fisher 的原始记载比较,在孢子量度方面略偏大 0.5—1 微米。这可能是同种内不同菌株的差异。McCoy 曾试验 8 种合成培养基培养成功,发现培养基生长率的种间差异很小,但以 PDA 生长最快,12 天后孢子数量最多。以纯琼脂作对照的也是如此,然而我们试验的 2% 纯琼脂培养基并不长成菌落。在液体培养方面,以葡萄糖作碳源,浓度自 0.1—50 毫克/毫升,产量均极微,而 McCoy 试验以 5 毫克/毫升为最适,产量最高;以豚作氮源的,McCoy 试验最适浓度为 0.5 毫克/毫升,我们试验在 5—10 毫克/毫升之间,因此在这方面还须进一步深入研究。

参 考 文 献

- Baker, J. R. and H. H. Neuzig 1968 *Hirsutella thompsonii* as a fungus parasite of the blueberry bud mite. *J. Econ. Ent.* 61:1117—8.
- Fisher, F. E. 1950 Entomogenous fungi attacking scale insects and rust mites on citrus in Florida. *J. Econ. Ent.* 43(3): 305—9.
- Fisher, F. E. 1950 Two new species of *Hirsutella* Patouillard. *Mycol.* 42:290—7.
- McCoy, C. W. and R. F. Kanavel 1969 Isolation of *Hirsutella thompsonii* from the citrus rust mite, *Phyllocoptruta oleivora*, and its cultivation on various synthetic media. *J. Invert. Pathol.* 14:386—90.
- McCoy, C. W., A. J. Hill and R. F. Kanavel 1972 A liquid medium for the large-scale production of *Hirsutella thompsonii* in submerged culture. *J. Invert. Pathol.* 19(3). Illus. 1972.
- McLeod, D. M. 1959 Nutritional studies on the genus *Hirsutella*. I. Growth response in an enriched liquid medium. *Canad. J. Bot.* 37:695—714.
- McLeod, D. M. 1960 Nutritional studies on the genus *Hirsutella*. II. Nitrogen utilization in a synthetic medium. *Canad. J. Bot.* 37(5):819—34.
- Reed, D. K., A. K. Burditt Jr., and C. R. Crittenden 1964 Laboratory methods for rearing rust mites (*Phyllocoptruta oleivora* and *Aculus pelekassi*) on citrus. *J. Econ. Ent.* 57(1):130—3.